

EFEITO DE COMPOSTOS DERIVADOS DE QUINOLINA CONTENDO SELÊNIO NA ATIVIDADE DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE EM CÓRTEX CEREBRAL DE CAMUNDONGOS

RENATA L. OLIVEIRA¹; MIKAELA P. PINZ²; ANGELICA S. REIS³; DIEGO ALVES⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL A. WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – renataleivas15@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – mikaelappinz@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – ge_schiavon@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - diego.alves@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima responsável pela modulação da neurotransmissão colinérgica através da hidrólise do neurotransmissor acetilcolina presente no sistema nervoso central e periférico (MARTINI, et. al., 2015).

Existe uma relação bem estabelecida entre o sistema colinérgico e a aprendizagem, a memória, a atenção e outros processos de cognição (VENTURA, 2007). De fato, um prejuízo na função colinérgica tem sido relacionada com déficits cognitivos como os observados na Doença de Alzheimer (DA) (SCHLIEBS e ARENDT, 2006). Portanto, uma estratégia de tratamento consiste em aumentar as funções colinérgicas através da utilização de inibidores da AChE (PORCEL e MONTALBAN, 2006).

Dentre os inibidores da AChE com aplicação clínica destacam-se a tacrina, a donepezila, a galantamina e a rivastigmina. Entretanto estas substâncias apresentam utilização clínica limitada devido à sua baixa biodisponibilidade e os seus efeitos secundários indesejáveis, especialmente hepatotoxicidade, evidenciando assim a necessidade do desenvolvimento de novos anticolinesterásicos (CUMMINGS et al., 2014).

Segundo CHIERRITO (2016), compostos derivados de quinolina apresentam potencial inibição na atividade da enzima AChE. Neste sentido, nosso grupo de pesquisa tem dedicado atenção especial ao estudo da farmacologia e toxicologia de compostos derivados de quinolina contendo selênio. Recentemente Pinz et al. (2016), demonstrou os efeitos anti-inflamatório, antinociceptivo e antioxidante do composto 7-cloro-4-(fenilseleno)quinolina.

Considerando a necessidade da pesquisa de compostos inibidores da AChE e o importante potencial farmacológico dos compostos derivados de quinolina contendo selênio, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação anticolinesterásica de derivados quinolínicos contendo selênio em córtex cerebral de camundongos *in vitro*.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese

Os derivados de quinolina contendo selênio foram sintetizados no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (Figura 1).

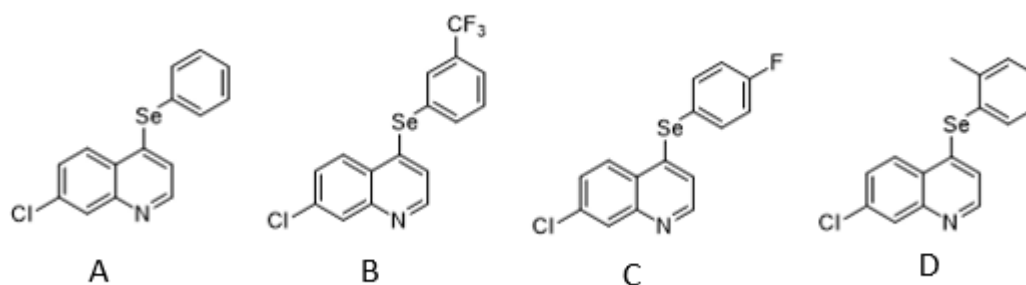


Figura 1. Estrutura química dos compostos derivados de quinolina contendo selênio.

2.2 Atividade da enzima AChE *in vitro*

Para a realização desse ensaio, foram utilizados córtex cerebrais de camundongos machos *Swiss*. Os experimentos foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética e Experimentação da UFPEL (nº 1974-2016), Brasil.

Os tecidos foram homogeneizados em Medium I (0,32 M de sacarose, 5,0 mM de HEPES, 0,1 mM de ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico) na proporção 1:10 (v/v). Posteriormente o homogenato foi centrifugado a 900 xg durante 15 minutos e o sobrenadante foi utilizado no ensaio.

A atividade da AChE cerebral foi determinada de acordo com o método de Ellman et al. (1961), com algumas modificações, usando iodeto de acetiltiocolina como substrato. Uma alíquota do sobrenadante do córtex cerebral foi pré-incubada durante 2 min a 25°C na presença de diferentes concentrações dos compostos diluídos previamente em dimetilsulfóxido (1, 10, 100 e 200 µM), em um meio contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5. A reação enzimática foi iniciada pela adição de 5,5-ditiobis(2-nitrobenzóico) (0,5 mM) e acetiltiocolina (0,8 mM). A taxa de hidrólise de iodeto de acetiltiocolina foi determinada espectrofotometricamente a 412 nm. A atividade da AChE foi expressa em porcentagem do controle.

2.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 demonstra o efeito dos derivados de quinolina contendo selênio (A-D) na atividade da AChE no córtex cerebral de camundongos.

Tabela 1. Efeito dos compostos derivados de quinolina contendo selênio (A-D) na atividade da AChE em córtex cerebral de camundongos

	A	B	C	D
Controle	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10
1 µM	90 ± 8	93 ± 14	77 ± 4*	103 ± 3
10 µM	96 ± 5	81 ± 28	72 ± 3*	93 ± 19
100 µM	82 ± 16	75 ± 17	81 ± 9*	98 ± 13
200 µM	91 ± 3	91 ± 27	79 ± 2*	109 ± 17

Os dados estão demonstrados como % do controle. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (One-way ANOVA/Newman-Keuls).

Os resultados demonstram que composto C reduziu a atividade da AChE a partir da concentração de 1 µM no córtex cerebral de camundongos. Por outro lado, os compostos A, B e D não apresentaram efeito inibitório na atividade da enzima, em nenhuma das concentrações testadas. Desta forma, pode-se sugerir que o flúor na estrutura química com composto C contribui para o efeito inibitório na atividade da AChE, uma vez que Liu et. al. (2015) demonstraram que compostos contendo esse halogênio apresentam potencial de inibição da AChE.

4. CONCLUSÕES

Neste sentido, o composto C pode representar uma possível estratégia terapêutica para o tratamento de déficit cognitivo, como por exemplo na DA. Além disso, outros ensaios devem ser realizados objetivando complementar o estudo do efeito inibitório da AChE do composto que apresentou efeito.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHIERRITO, T. P. C. **Síntese de potencial inibidor de acetilcolinesterase para o tratamento da Doença de Alzheimer.** 2016. 191f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

CUMMINGS, J. L. Cholinesterase inhibitors: A new class of psychotropic compounds. **American Journal of Psychiatry**, Los Angeles, v.157, n.1, p.4-15, 2014.

ELLMAN, G. L; COURTNEY, K. D.; ANDRES, Jr. V.; FEATHERSTONE, M.R. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, California, v.7, n.1, p.88-95, 1961.

LIU, H. R.; ZHOU, C.; FAN, H. Q.; TANG, J. J.; LIU, L. B.; GAO, X. H.; WANG, Q. A.; LIU W. K. Novel Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors as Potential Drugs for the Treatment of Alzheimer's Disease: Synthesis, Pharmacological

Evaluation, and Molecular Modeling of Amino-Alkyl-Substituted Fluoro-Chalcones Derivatives. **Chemical Biology & Drug Design**, China, v.86, n.4, p.517-522, 2015.

MARTINI, F.; BRUNING, C. A.; SOARES, S. M.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Inhibitory Effect of Ebselen on Cerebral Acetylcholinesterase Activity *In Vitro*: Kinetics and Reversibility of Inhibition. **Current Pharmaceutical Design**, USA, v.21, n.7, p. 920-924, 2015.

PINZ, M.; REIS, A. S.; DUARTE, V.; DA ROCHA, M.; GOLDANI, B.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM E. A. 4-Phenylselenenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European journal of pharmacology**, USA, v.780, n.5, p.122-128, 2016.

PORCEL, J.; MONTALBAN, X. Anticholinesterasics in the treatment of cognitive impairment in multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, Barcelona, v.245, n.2, p.177-181, 2006.

SCHLIEBS, R.; ARENDT, T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. **Journal of Neural Transmission**, Germany, v.133, n. 11, p.1625-1644, 2006.

SOUZA, A. C.; ACKER, C. A.; GAI, B. M.; NETO, J. S.; NOGUEIRA, C. W. 2-Phenylethynyl-butyltellurium improves memory in mice. **Neurochemistry International**, Paris, v.60, n.1, p.09-414, 2014.

VENTURA, L. L.; ABREU, P. A.; FREITAS, C. C.; PLINIO, C.; SATHLER, N. L.; CASTRO, H. C. Cholinergic system: revisiting receptors, regulation and the relationship with Alzheimer disease, schizophrenia, epilepsy and smoking. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v.37, n.2, p.66-72, 2010.